

Penambahan xylitol dalam glukosa, sukrosa terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* (in vitro)

by Susilowati Susilowati

FILE	SOESILOWATI_REVISI_UD_OK.DOC (121K)		
TIME SUBMITTED	30-DEC-2014 12:23PM	WORD COUNT	2562
SUBMISSION ID	492938721	CHARACTER COUNT	16439

Penambahan xylitol dalam glukosa, sukrosa terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* (in vitro)

(The Additional xylitol in glucose and sucrose on growth of Mutans Streptococci (in vitro))

1 silowati, Udiyanto Tedjosongko, dan FX Suhariadji

Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga
Surabaya-Indonesia

ABSTRACT

Background: Xylitol is a sugar alcohol group consisting of five-carbon chain and the sugar substitutes are recommended to prevent caries. Dietary sugars known as a good substrate for the growth of *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Two types of sugar, xylitol and dietary sugars have different effects on the growth of *S. mutans*. **Purpose:** The objective of this study were to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of xylitol on the growth of *S. mutans* and to determine the addition of xylitol in glucose and sucrose in the growth of *S. mutans* in vitro. **Methods:** The samples were divided into 3 groups: xylitol group, xylitol and sucrose combination group, and xylitol and glucose combination group. In all groups were tested against *S. mutans* growth in various concentrations. **Results:** The minimum inhibitory concentration against *S. mutans* xylitol was equal to 0.625%. The addition of xylitol in sucrose the inhibition of *S. mutans* growth occurred at concentrations of 0.625 % and 2.5%. The addition of xylitol in glucose inhibited the growth of *S. mutans* at all concentrations. **Conclusion:** This study showed that the combination of xylitol with dietary sugars could inhibit the growth of *S. mutans*.

Keywords: xylitol, glucose, sucrose, *Streptococcus mutans*, dental caries

ABSTRAK

Latar belakang: Xylitol adalah golongan gula alkohol yang terdiri dari lima rantai karbon dan merupakan sugar substitutes yang dianjurkan untuk mencegah terjadinya karies. Dietary sugars diketahui sebagai substrat yang baik untuk pertumbuhan bakteri rongga mulut salah satunya *Streptococcus mutans* (*S. mutans*). Dua jenis gula yaitu xylitol dan dietary sugars memiliki pengaruh yang berbeda pada pertumbuhan *S. mutans*. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah meneliti konsentrasi hambat minimal (Minimal Inhibitory Concentration/ MIC) xylitol terhadap pertumbuhan *S. mutans* dan meneliti pengaruh penambahan xylitol dalam glukosa dan dalam sukrosa terhadap pertumbuhan *S. mutans* secara in vitro. **Metode:** Sampel dibagi dalam 3 kelompok: kelompok xylitol, kelompok kombinasi xylitol dan sukrosa, dan kelompok kombinasi xylitol dan glukosa. Pada ketiga kelompok tersebut dilakukan pengujian terhadap pertumbuhan *S. mutans* dalam berbagai konsentrasi. **Hasil:** Konsentrasi hambat minimum xylitol terhadap *S. mutans* adalah sebesar 0,625%. Pada penambahan xylitol dalam sukrosa terjadi penghambatan *S. mutans* pada

konsentrasi 0,625% dan 2,5%. Pada penambahan xylitol dalam glukosa terjadi penghambatan *S. mutans* pada semua konsentrasi. **Simpulan:** Penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi xylitol dengan dietary sugars dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Kata kunci: xylitol, glukosa, sukrosa, *Streptococcus mutans*, karies gigi

1
Korespondensi (*correspondence*): Udjanto Tedjosongko, Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Mayjend. Prof. Dr. Moestopo no. 47 Surabaya 60132, Indonesia. E-mail: udjanto@gmail.com

PENDAHULUAN

Xylitol adalah golongan gula alkohol yang terdiri dari 5 rantai karbon yang banyak ditemukan pada beberapa tanaman, buah-buahan dan diproduksi dalam jumlah kecil di dalam tubuh manusia. Seorang ahli kimia dari Jerman bernama Fischer adalah orang yang pertama kali menemukan jenis gula ini pada tanaman odorless putih. Sejak tahun 1960an *xylitol* mulai dikenal luas sebagai terapi cairan pada pasien *post operative*, luka bakar, *shock*, diet terapi pada pasien *diabetes millitus* dan akhir-akhir ini diperkenalkan sebagai pemanis dalam beberapa produk yang dapat meningkatkan kesehatan rongga mulut, seperti dalam pasta gigi dan obat kumur.¹

Xylitol direkomendasikan oleh American Academy of Pediatric Dentistry sebagai *sugar substitutes* untuk meningkatkan kesehatan rongga mulut pada anak-anak, dewasa, atau pasien dengan *special health care*. Diet makanan merupakan salah satu faktor dalam terbentuknya karies gigi. Peningkatan *oral hygiene* dan tindakan pencegahan seperti penggunaan fluoride, serta kontrol diet yang tepat merupakan beberapa strategi yang baik untuk mencegah karies gigi. Penggunaan *xylitol* sebagai *sugar substitutes* dianjurkan sebagai tindakan pencegahan karies, namun penggunaan *xylitol* sepenuhnya dalam mengganti *dietary sugars* juga tidak dianjurkan. Hal ini dikarenakan *xylitol* diserap lambat oleh lambung sehingga dalam pemakaian berlebih dapat menyebabkan gangguan pada saluran pencernaan.²

5
Glukosa merupakan bagian utama diet penduduk di Indonesia. Selain sebagai makanan pokok, gula juga dikonsumsi sebagai makanan ringan atau camilan seperti yang terdapat dalam permen, wafer, kue, biskuit, dan dalam minuman ringan. Manifestasi konsumsi sukrosa dalam kehidupan sehari-hari adalah dalam bentuk gula putih. Konsumsi sukrosa dalam jumlah besar dapat menurunkan kapasitas *buffer* saliva sehingga mampu meningkatkan insiden terjadinya karies.³

Bakteri rongga mulut seperti *S. mutans* sebagai salah satu penyebab karies gigi dalam pertumbuhannya sangat membutuhkan karbohidrat sebagai media pertumbuhannya. Hasil fermentasi dari karbohidrat dapat menimbulkan suasana asam yang sangat membantu *acidogenic* mikroflora berkolonisasi pada permukaan gigi dan dengan lamanya waktu akan dapat menyebabkan karies gigi. Makanan yang mengandung sukrosa, fruktosa, laktosa ataupun polisakarida yang lain kita konsumsi sebagai makanan sehari-hari atau biasa disebut sebagai *dietary sugars* termasuk jenis karbohidrat dengan dasar 6 rantai karbon. Jenis karbohidrat ini diketahui sebagai substrat yang baik dalam pertumbuhan bakteri rongga mulut. Beberapa isu tentang diet mengatakan bahwa *dietary sugars* adalah yang bertanggung jawab dalam timbulnya karies.⁴

Konsumsi makanan atau diet memang sangat berpengaruh pada efek kerja dari xylitol dalam mencegah karies. Salah satu kemungkinan yang dapat dihubungkan efek *xylitol* dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri adalah karena *xylitol* mempunyai 5 rantai karbon. Hal ini dapat dijelaskan pada "Rule 5/6" bahwa metabolisme karbohidrat yang mengandung 6 rantai karbon dihambat oleh karbohidrat dengan 5 rantai karbon. Nutrisi yang banyak digunakan sebagai sumber energi pada kehidupan manusia adalah karbohidrat dengan 6 rantai karbon dan derivatnya. *Xylitol* mencegah proses glikolisis karbohidrat 6 rantai karbon. Hal ini merugikan bagi mikroba yang ada pada tubuh manusia dalam hal ini bakteri rongga mulut.¹

Dari beberapa uraian diatas terlihat bahwa dua jenis gula yaitu *xylitol* dan *dietary sugars* memiliki pengaruh yang berbeda pada pertumbuhan *S. mutans*. Penggunaan dua jenis gula ini dalam waktu bersamaan kemungkinan akan terjadi penghambatan metabolisme sehingga akan berpengaruh pada pertumbuhan bakteri rongga mulut. Untuk itu kami ingin meneliti efek penambahan *xylitol* dalam glukosa dan dalam sukrosa yang termasuk *dietary sugars* terhadap pertumbuhan *S. mutans* yang merupakan salah satu jenis bakteri yang bertanggung jawab dalam timbulnya karies gigi.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi hambat minimal (*Minimal Inhibitory Concentration/ MIC*) penambahan *xylitol* terhadap pertumbuhan *S. mutans* secara *in vitro* dan untuk melihat pengaruh penambahan *xylitol* dalam glukosa dan dalam sukrosa pada pertumbuhan *S. mutans* secara *in vitro*. Pada akhir penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan dalam penentuan diet jenis karbohidrat yang tepat dalam pengkombinasiaannya dengan *xylitol* sebagai pemanis yang *non cariogenic* dalam upaya pencegahan karies gigi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan desain penelitian *post test only control group*. Lokasi penelitian ini di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Kimia bagian Kimia analitik Universitas Airlangga Surabaya. Pada penelitian ini digunakan 7 sampel pada masing-masing konsentrasi kelompok perlakuan dan 7 sampel untuk kelompok kontrol.

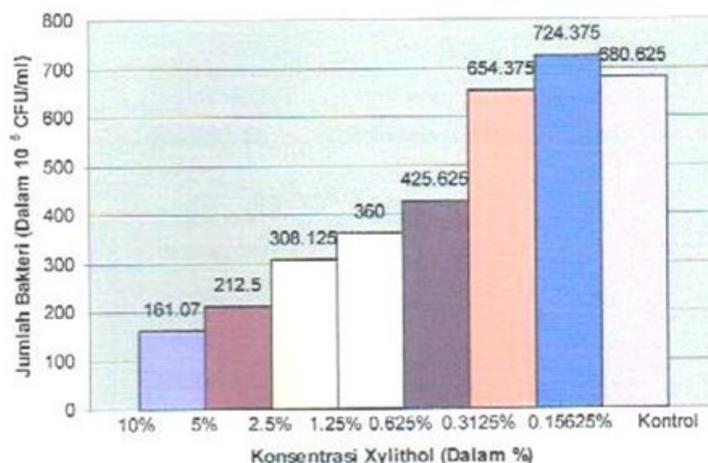
Isolat *S. mutans stock* Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga tersimpan dalam media BHIB-gliserol (*frozen*). Isolat yang masih beku dikeluarkan dan di letakkan dalam suhu kamar untuk mencairkan kembali kemudian diambil 2 ml dan dimasukkan dalam media 5 ml BHI-B dan selanjutnya diinkubasi dalam *incubator* aerob selama (24 jam, 37° C) untuk mengaktifkan *S. mutans*. Prosedur *reculture* ini kemudian diulang sekali lagi atau dilakukan dua kali untuk memastikan bahwa kuman sudah benar-benar aktif dan bisa digunakan dalam penelitian. Setelah diaktifkan, isolat *S mutans* siap untuk digunakan dalam penelitian dan disesuaikan kekeruhannya dengan standard Mc Farland.⁵

Pembuatan larutan *xylitol* dalam aquadest steril dan dilakukan pengenceran seri dengan aquadest steril hingga didapatkan konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,62%. Persiapan suspensi bakteri dalam media BHI-B dengan menyamakan kekeruhan suspensi bakteri dengan standard 0,5 Mc Farland hingga didapatkan suspensi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml dan diencerkan lagi hingga mencapai 5×10^5 CFU/ml. Kemudian dari masing-masing konsentrasi *xylitol* diambil 1 ml dan ditambah 0,03 ml inokulum bakteri dan keduanya dimasukkan dalam media BHI-B dan selanjutnya dilakukan inkubasi dalam *incubator* aerob selama (24 jam, 37° C). Tahap selanjutnya dilakukan pengukuran pH dengan lakmus universal dan dilakukan pengamatan dengan *spectrofotometer* dan dengan melihat angka kekeruhan (OD) yang terlihat pada alat *spectrofotometer* akan menunjukkan semakin besar angka berarti semakin keruh dan semakin banyak jumlah kuman.

Dengan metode yang sama dilakukan pengujian larutan sukrosa dalam konsentrasi 2,5%; 1,25%; 0,625%; 0,325%; 0,175%. Konsentrasi tersebut diperoleh dari konsentrasi terendah sukrosa dalam suatu media biakan yang dapat menumbuhkan bakteri. Prosedur yang sama dilakukan pada larutan glukosa dalam aquadest steril dengan konsentrasi 0,8%; 0,4%; 0,2%; 0,1%; 0,05% yang merupakan konsentrasi terendah glukosa dalam suatu media biakan yang dapat menumbuhkan bakteri.

HASIL

Gambar 1 menggambarkan hasil perhitungan koloni bakteri pada pemberian *xylitol* untuk melihat pertumbuhan *S. mutans*.



Gambar 1. Jumlah koloni *S. mutans* setelah pemberian *xylitol* dalam berbagai konsentrasi

Dari Gambar 1 yang kita lihat bahwa pada konsentrasi 0,625% *xylitol* sudah memperlihatkan penurunan *Optical Density* (OD) jumlah koloni yang berarti pada konsentrasi tersebut *xylitol* sudah dapat menghambat pertumbuhan koloni *S. mutans*. Selain itu pada konsentrasi 0,625% sudah terlihat kenaikan pH dibanding kelompok kontrol. Hal ini berarti bahwa *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) *xylitol* terhadap *S. mutans* adalah 0,625%.

Tabel 1. Hasil uji-t penambahan *xylitol* dalam sukrosa pada pertumbuhan *S. mutans*

Kelompok	Mean difference	Sd	df	Uji-t	Sig
2.55%	-0.01969	0.07005	6.574	-2.810	0.028
1.25%	-0.0313	0.4334	12	-0.722	0.484
0.625%	-0.0826	0.02350	12	-3.514	0.004
0.325%	-0.0457	0.04067	12	-1.124	0.283
0.175%	-0.0971	0.05208	12	-1.865	0.087

Dari Tabel 1 dapat diketahui, signifikansi pada konsentrasi 0,625% dan 2,5% dengan kelompok kontrol $<0,05$ sehingga dapat dikatakan ada perbedaan yang bermakna pada konsentrasi 0,625% dan 2,5% dengan kelompok kontrol. Selain itu terlihat kenaikan pH pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Tabel 2. Hasil uji-t penambahan *xylitol* dalam glukosa pada pertumbuhan *S. mutans*

kelompok	Mean difference	Sd	df	Uji-t	Sig
0.8%	-0.0980	0.04236	12	-2.314	0.039
0.4%	-0.1003	0.02882	12	-3.480	0.005
0.2%	-0.1601	0.03302	7.509	-4.849	0.002
0.1%	-0.1420	0.03755	12	-3.782	0.003
0.05%	-0.1881	0.02020	12	-9.313	0.000

Dari Tabel 2 dapat diketahui, signifikansi pada semua konsentrasi dengan kelompok kontrol <0.05 sehingga dapat dikatakan ada perbedaan yang bermakna pada semua konsentrasi dengan kelompok kontrol. Selain itu terlihat kenaikan pH pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

PEMBAHASAN

Hasil pengamatan dari pertumbuhan *S. mutans* menunjukkan *xylitol* pada konsentrasi 0,625% sudah mulai menunjukkan penghambatan pertumbuhan *S. mutans* dan terjadi kenaikan pH. Penghambatan *xylitol* terhadap pertumbuhan *S. mutans* dan kenaikan pH berarti juga penghambatan karies. Kemungkinan penjelasan mekanisme bagaimana *xylitol* dapat memberikan efek tersebut sangatlah kompleks dan belum bisa dijelaskan secara detail, namun penghambatan enzim kemungkinan terlibat dalam hal ini.¹

Beberapa hal yang mungkin dapat menjelaskan hal tersebut adalah sebagai berikut, *xylitol* ditransport dan difosforilasi oleh Phosphoenolpyruvate *xylitol* phosphotransferase system (PEP-*xylitol* PTS) kedalam sel bakteri dalam hal ini *S. mutans*. Setelah masuk *xylitol* diubah menjadi *xylitol 5 phosphate* (X5P). Penumpukan X5P dalam intrasel bakteri ini akan menghambat enzim yang ada dalam proses glikolisis dan hasilnya akan menyebabkan penurunan produksi asam dan pada akhirnya menghambat pertumbuhan dari bakteri tersebut. Kemudian proses regulasi dari dalam bakteri melakukan dephosphorilasi X5P menjadi *xylitol* lagi dan kemudian mengeluarkan *xylitol* keluar dari sel. Siklus fosforilasi dan dephosphorilasi ini disebut *futile-cycle* dimana hasil dari proses ini berupa PEP yang berfungsi sebagai donor fosforilasi untuk pembentukan ATP dan sumber energi untuk PEP-sugar PTS. Keberadaan *futile cycle* ini membawa akibat penurunan produksi asam dan penurunan pertumbuhan bakteri.⁶

Pada penelitian ini didapatkan konsentrasi hambat minimal *xylitol* terhadap *S. mutans* adalah sebesar 0,625%. Modesto dan Drake,⁷ mengatakan kombinasi antara chlorhexidine 0,12% dan *xylitol* 0,5% dapat menghambat kolonisasi dari *S. mutans*. Pada penelitian lain yang dilakukan Sahni *et al.*,⁸ menunjukkan konsentrasi hambat minimal *xylitol* terhadap *S. mutans* sebesar 1,56% sedangkan pada *S. salivarius* dan *S. sanguis* sebesar 12%. Adanya perbedaan besar konsentrasi *xylitol* dalam menghambat bakteri rongga mulut tergantung kondisi bakteri. Mekanisme kerja atau prosedur penelitian serta asal isolat dari *S. mutans* juga akan mempengaruhi hasil dari penelitian. Pada penelitian ini Isolat *S. mutans* yang digunakan berasal dari plak, karies pasien klinis. Selain itu pada konsentrasi larutan tertentu yang terbanyak sekitar 10-50% bakteri mengalami kesulitan untuk homeostasis, banyak bakteri yang tidak bisa bertahan pada perubahan tekanan osmotik yang drastis ini.⁸

Pada penelitian penambahan *xylitol* dalam sukrosa dan glukosa diperoleh bahwa pada penambahan *xylitol* dalam glukosa terdapat perbedaan yang bermakna pada semua konsentrasi sedangkan pada penambahan *xylitol* pada sukrosa hanya pada konsentrasi 0,625% dan 2,5% ada perbedaan yang bermakna. Dalam pembagiannya karbohidrat diklasifikasikan dari yang sederhana (monosakarida, disakarida) sampai yang kompleks (polisakarida). Karbohidrat monosakarida terdiri dari glukosa, fruktosa dan galaktosa sedangkan disakarida terdiri dari sukrosa, maltosa dan laktosa. Jenis polisakarida merupakan jenis karbohidrat yang lebih kompleks diantaranya *starch*, cereal, nasi, *crackers*, *snack* dan sebagainya. Pada penelitian ini jenis karbohidrat yang digunakan adalah glukosa yang termasuk monosakarida dan sukrosa yang termasuk disakarida. Sukrosa tersusun dari satu molekul glukosa dan satu molekul fruktosa.⁴

Menurut Trahan,⁹ pada penambahan *xylitol* dalam beberapa *dietary sugar*, *S. mutans* juga mempunyai PEP-fruktosa PTS yang fungsinya sama dengan PEP-*xylitol* PTS. Penambahan *xylitol* dalam beberapa *dietary sugar* *xylitol* ditransport melalui PEP-fruktosa PTS, dan dalam penambahan *xylitol* dalam fruktosa jumlah X5P intraseluler lebih sedikit dibanding jenis *dietary sugar* lainnya. Daya tarik PEP-fruktosa PTS pada fruktosa lebih kuat dibandingkan pada *xylitol* sehingga jika *xylitol* dan fruktosa digabungkan pembentukan X5P sedikit atau bahkan tidak terjadi. Pada penambahan *xylitol* dalam beberapa *dietary sugar*, *S. mutans* juga mempunyai PEP-fruktosa PTS yang fungsinya sama dengan PEP-*xylitol* PTS.⁶

Pada penelitian ini penambahan *xylitol* dalam sukrosa hanya terdapat perbedaan pada konsentrasi 0,625% dan 2,5% sedangkan pada konsentrasi lain tidak didapatkan perbedaan yang bermakna. Sukrosa merupakan disakarida yang terbentuk dari molekul glukosa dan molekul fruktosa. Molekul fruktosa mempunyai daya tarik yang lebih kuat terhadap PEP-

fruktosa PTS yang membuat *xylitol* masuk ke dalam tubuh bakteri melalui fruktosa phosphotransferase sistem sehingga pembentukan X5P sedikit dan hal ini menyebabkan tidak terjadinya penghambatan pertumbuhan *S. mutans* dan produksi asam pada beberapa konsentrasi penambahan *xylitol* dalam sukrosa. Adanya keseimbangan glukosa dan fruktosa dalam sukrosa sangat mempengaruhi kerja PEP-fruktosa PTS dalam menghasilkan X5P yang akhirnya berakibat pada penghambatan pertumbuhan *S. mutans*.

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan konsentrasi hambat minimum *xylitol* terhadap *S. mutans* adalah sebesar 0,625%. Pada penambahan *xylitol* dalam sukrosa terjadi penghambatan *S. mutans* dan penurunan produksi asam pada konsentrasi 0,625% dan 2,5%. Pada penambahan *xylitol* dalam glukosa terjadi penghambatan *S. mutans* dan penurunan produksi asam pada semua konsentrasi. Dari penelitian ini menunjukkan bahwa pengkombinasian penggunaan *xylitol* dengan *dietary sugars* perlu diperhatikan. Hal ini berpengaruh pada efek yang akan ditimbulkan oleh *xylitol*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan pengkombinasian yang tepat antara *xylitol* dengan jenis *dietary sugars* yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cronin JR. Xylitol a sweet for healthy teeth and more. *Alternative and Complementary Therapies* 2003; 139-41.
2. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on the use xylitol on caries prevention. Council on Clinical Affairs, 2006,
3. Soesilo D. Peranan sorbitol dalam mempertahankan kestabilan pH saliva pada proses pencegahan karies. *Maj Ked Gigi (Dent J)* 2005; 38(1): 25-8.
4. Carole AP. Diet and nutrition in oral health. New Jersey: Pearson Education Inc; 2003. p. 59-70.
5. Bailey S. *Diagnostic microbiology*. 7th ed. St Louis: Mosby Inc; 1986. p. 229-49.
6. Kakuta H, Iwami Y, Mayanagi H, Takahashi N. Xylitol inhibition of acid production and growth of mutans Streptococci in the presence of various dietary sugars under strictly anaerobic conditions. *Caries Res* 2003; 37(6): 404-9.
7. Modesto A, Drake DR. Multiple exposure to chlorhexidine and xylitol: adhesion and biofilm formation by *Streptococcus mutans* *Curr Microbiol* 2006; 52(6): 418-23.
8. Sahni PS, Gillespie MJ, Botto RW, Otsuka AS. In vitro testing of xylitol as an anticariogenic agent. *Gen Dent* 2002; 50(4): 340-3.

4

9. Trahan L, Bareil M, Gauthier L, Vadeboncoeur C. Transport and phosphorylation of xylitol by fructose phosphotransferase system in *Streptococcus mutans*. *Caries Res.* 1985; 19(1): 53-63.

Penambahan xylitol dalam glukosa, sukrosa terhadap pertumbuhan Streptococcus mutans (in vitro)

ORIGINALITY REPORT

12%

SIMILARITY INDEX

10%

INTERNET SOURCES

6%

PUBLICATIONS

8%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Submitted to iGroup Student Paper	2%
2	www.jcda.ca Internet Source	1%
3	Submitted to Universitas Muhammadiyah Surakarta Student Paper	1%
4	www.adajournal.com Internet Source	1%
5	avinaninasia.wordpress.com Internet Source	1%
6	www.yektawebsite.ir Internet Source	1%
7	ejournal.undip.ac.id Internet Source	1%
8	jstoma.com Internet Source	1%
9	www.aapd.org Internet Source	1%

10	www.ncbi.nlm.nih.gov Internet Source	<1 %
11	T. YILDIRMAK. "Multiple drug resistance patterns and plasmid profiles of non-typhi salmonellae in Turkey", <i>Epidemiology and Infection</i> , 10/1998 Publication	<1 %
12	mgmpkimiasumbar.wordpress.com Internet Source	<1 %
13	www.pdgi.or.id Internet Source	<1 %
14	Chung, J.Y. Choo, J.H. Lee, M.H. Hwang, . "Anticariogenic activity of macelignan isolated from <i>Myristica fragrans</i> (nutmeg) against <i>Streptococcus</i> ", <i>Phytomedicine: International Journal of</i> , March 2006 Issue Publication	<1 %
15	www.adha.org Internet Source	<1 %
16	Eva M. Söderling. "Growth Inhibition of <i>Streptococcus mutans</i> with Low Xylitol Concentrations", <i>Current Microbiology</i> , 04/2008 Publication	<1 %

EXCLUDE
BIBLIOGRAPHY

ON